

糖脂質 lactosyl ceramide (CDH) に対するモノクローナル抗体の作製とその解析 - 癌関連抗原としてのCDHと自然抗体及び抗イデオタイプ抗体の存在

-

著者	岡部 直衛
号	1833
発行年	1986
URL	http://hdl.handle.net/10097/19976

氏 名 (本籍) おか べ なお え
岡 部 直 衛

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 8 3 3 号

学位授与年月日 昭 和 6 1 年 9 月 1 0 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭和 5 1 年 3 月
弘前大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 糖脂質 lactosyl ceramide (CDH) に対するモノ
クロナル抗体の作製とその解析
— 癌関連抗原としての C D H と自然抗体及び抗イ
デオタイプ抗体の存在 —

(主 査)

論文審査委員 教授 後 藤 由 夫 教授 涌 井 昭

教授 橘 武 彦

論文内容要旨

緒 言

これまでの多くの研究により、正常生体には癌細胞を排除する免疫監視機構が存在することは確実である。しかし、そのしくみは今だによくわかっていない。Oldは癌抗原をClass 1（個々の癌にのみ特異的なもの）、Class 2（癌に特異的なもの）、Class 3（癌及び種々の正常細胞にもみられるもの）に分類した。この中で診断や治療に結びつくものはClass 2 癌関連抗原であり、そのひとつの可能性をもつものとして、正常細胞では量的に少ないか、あるいは cryptic に存在している一連の糖脂質があげられる。最近のモノクロナル抗体（以下MAb）を利用した癌関連抗原の研究でも同様の報告がみられる。本研究では、単球性白血病細胞株THP-1を免疫して得られた糖脂質 lactosyl ceramide (ceramide dihexoside, 以下CDH) に対するMAbを用いて、正常細胞及び癌細胞との反応性、種々の条件下における反応性の変化、また、ヒト血中のCDHに対する自然抗体の有無を調べ、CDHのClass 2 癌関連抗原としての可能性を検討した。

方 法

MAbはKöhlerらに準じて作製した。正常血液細胞、白血病細胞、白血病細胞株との反応は間接蛍光抗体法で調べた。また、mitogen添加時や培養日数による反応性の変化、neuraminidase 処理による反応性の変化などもみた。糖脂質との反応は、薄層クロマトグラフィー酵素抗体法及び酵素免疫吸着法（以下ELISA）で調べた。MAbと血中免疫グロブリンとの反応はELISAで調べた。血中CDHの検索は逆受身感作赤血球凝集反応（以下RPHA）で調べた。

結 果

得られたMAbはIgMに属す。MAbは標準糖脂質11種中CDHとのみ反応し、LacAbと名づけた。block試験においてCDH-liposomeと β -lactoseとの間には、反応特異性に 10^5 倍以上の差がみられた。このことよりLacAbは、CDHの糖鎖（ β -lactose）のみならず脂質部分をも認識している可能性が考えられた。LacAbは正常末梢血血液細胞、骨髓細胞、胸腺細胞とは反応しなかった。21例の造血器腫瘍症例中1例の急性リンパ性白血病細胞と反応した。白血病細胞株では31種中9種に反応した。反応陰性株でも対数増殖期にかけて一過性に陽性細胞が出現するものが多かった。同様の現象はmitogen刺激正常リンパ球でもみられた。反応陰性細胞の多くはneuraminidase処理で陽性となった。正常人18例中7例で微量のCDHに対する自然抗体が

認められた。41℃で反応させると陽性例は12例となった。(intraassay) 逆に, LacAbに対する特異抗体 (LacAbに対する抗イディタイプ抗体, 以下抗Id抗体) も微量ながら18例中11例に認められた。両者の関係は, ほぼ逆であった。CDHは血清中に $\mu\text{g/ml}$ のorderで存在しているが, RPHA (感度20ng/ml以上) では証明されなかった。

考 案

CDHは種々の糖脂質の合成上, 分岐点にあたり, 多かれ少なかれすべての細胞にあると思われる。しかし, 正常細胞では極めてcrypticな形で存在している。RapportらはCDHを癌特異抗原として報告したが, 本研究からもClass 2 に属する一種の癌関連抗原であると言える。発癌遺伝子は, 癌細胞でのみならず正常細胞の増殖時にも一過性に活性化される。同様にCDHの膜への発現は, 正常細胞 (mitogen刺激リンパ球) でも, その対数増殖期にかけて一過性にみられた。このことより, 癌と正常細胞におけるClass 2 癌関連抗原としてのCDHの膜への発現の根本的な違いは, 持続性であるか一過性かにあると言える。正常血中には, CDHに対する自然抗体陽性例とLacAbに対する抗Id抗体陽性例の2群があり, 両者は逆の関係にあった。また, 血中のCDHをRPHAで検出できないことは, CDH, CDHに対する自然抗体, 抗Id抗体が各々immune complexの形で存在するためと考えられる。ヒト血中には他にも自己抗原に対する様々な自然抗体が存在している。これらのあるものは種々の細菌にも反応する。CDHと共通する抗原 (β -lactose) を持つ細菌にはある種のstreptococcus, neisseriaなどがある。このことより血中の細菌に対する様々な抗体には, 自己抗原とcross reactするものも含まれ, これらは抗Id抗体によりregulateされていると考えられる。Class 2 癌関連抗原に対する自然抗体-抗Id抗体immune complex, 血中Class 2 癌関連抗原-自然抗体immune complexは, 発熱や炎症組織でのpHの低下などにより, それを常時発現している癌細胞に対しては特異抗体源として作用し, その免疫学的排除に役立っているものと考えられる。このような血中でimmune complexの形で存在しているClass 2 癌関連抗原に対する自然抗体の分離法の開発, もしくはこのような抗原に対するヒトMAbの作製は, 癌におけるより安全で特異的な抗体療法を可能とするであろう。

審 査 結 果 の 要 旨

最近、癌関連抗原として糖蛋白質および糖脂質糖鎖の構造的変化、もしくは正常細胞では cryptic に存在する糖脂質の癌細胞での発現異常が注目されている。本研究で著者は、単球性白血病細胞株 T H P - 1 を免疫して得られた糖脂質 (ceramide dihexoside 以下 C D H) に対するモノクロナル抗体 (C D H - M A b) を用い、正常細胞、癌細胞との反応、ヒト血中の C D H に対する自然抗体及びそれに対する抗イディオタイプ抗体 (抗 Id 抗体) の有無を調べ、正常生体における癌の免疫監視機構を検討し、以下の成績と結論を得ている。

本研究で用いた C D H - M A b は標準糖脂質 11 種中 C D H とのみ反応し、正常血液細胞とは反応せず 21 例の造血器腫瘍症例中 1 例の急性リンパ性白血病細胞と反応した。白血病細胞株 31 種中 9 種と、うち 4 種とは細胞周期に関係なく常時高率に反応した。多くの反応陰性細胞株や有糸分裂促進因子で刺激した正常リンパ球でも、その対数増殖期にかけて一過性に反応陽性細胞が出現した。正常人 18 例中 7 例で微量の C D H に対する自然抗体が、また、11 例で抗 Id 抗体が認められ、両者はほぼ逆の関係にあった。C D H は糖脂質の合成上分岐点に位置し、すべての細胞にあると思われるが、正常細胞では極めて cryptic に存在している。しかし、癌細胞ではその細胞膜への露出度が増加していることが多い。正常細胞でも細胞周期の特定の時期に膜表面に露出されるが、このような正常細胞にも cryptic に存在する糖脂質の癌関連抗原としての意義は、癌細胞では常時高率に膜表面に発現されることにあると言える。正常人血中の自然抗体は恐らく大部分は常在細菌に向けられたものであり、その中には自己抗原と交叉反応するものも含まれ、これらは抗 Id 抗体により調節されていると考えられる。C D H と抗原決定基を同じくする細菌もいくつかあり、正常人血中にも微量ながら C D H に対する自然抗体及び抗 Id 抗体が認められた。血中の C D H は C D H - M A b を用いた免疫学的手法ではほとんど証明されなかったことより、血中 C D H、C D H に対する自然抗体、抗 Id 抗体の各々は免疫複合体の形で存在していると考えられるとしている。

この研究は、正常生体における変異細胞の排除、自己免疫疾患の病態、癌の免疫複合体排除による治療、自己免疫疾患の血漿交換や免疫グロブリン大量輸注法の効果を考える上で、一つの示唆を与えるものであり、学位授与に値する。